

高等植物細胞の先端成長時におけるSNAREタンパク質の役割

Roles of SNARE proteins on tip-growth of the cell in *Arabidopsis thaliana*

佐藤 雅彦、市川 美恵、江波 和彦

(京都府立大学大学院 生命環境学研究科)

1. 植物細胞における先端成長とは

細胞の先端成長とは、細胞の一部が特異的に細長く伸長成長する現象で、酵母の接合時における接合突起の形成、菌類における菌糸の伸長、シダの原糸体の伸長、神経細胞の軸索の伸長など様々な多細胞生物の形態形成において、非常に重要な役割を果たしている。高等植物においても、根毛や花粉管の伸長時に細胞の先端成長が重要な働きを担っていることが知られている(1)。先端成長とは、細胞質成分および細胞膜上の膜タンパク質が細胞の一部に偏在することによって細胞極性を確立し、細胞の一部に膜成分や特定のタンパク質を細胞の一部に輸送することによって起こると考えられる(図1)。

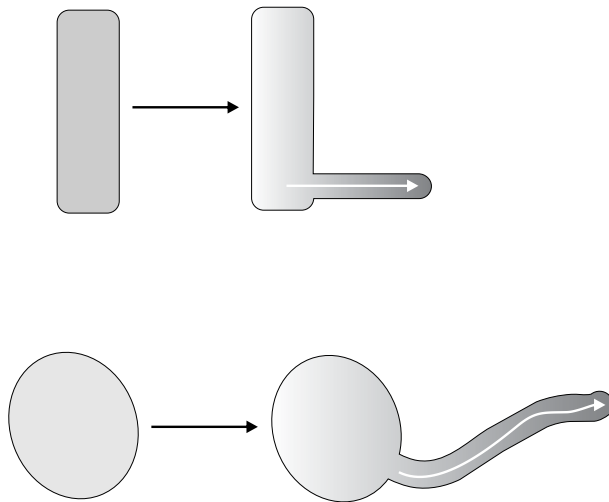


図1 植物細胞における先端成長
(上) 根毛細胞の先端成長 (下) 花粉管の先端成長
細胞が先端成長する際には、細胞膜の特定の領域に選択的に物質が輸送される。

を行うためには、細胞極性の確立が非常に重要であると考えられるが、細胞極性が確立するためには、細胞膜上の特定の領域への極性をもった物質の輸送(極性輸送)が必要である。

高等植物において、細胞膜への極性輸送は、花粉管や根毛の伸長反応のような細胞の先端成長をモデルとして精力的に進められ、カルシウムシグナリング、細胞骨格系、小胞輸送系の分子群等が重要な働きをしていることが報告されている(2)。

近年の分子細胞生物学的

研究により、高等植物の先端成長において、タンパク質の小胞輸送が非常に重要な働きをしていることが明らかになりつつある。本論文では、植物細胞の先端成長時における小胞輸送の役割を、輸送小胞と標的膜との融合時に働くSNAREタンパク質の機能を筆者らの研究成果を中心に解説する。

2. 細胞の先端成長における小胞輸送の役割

真核生物の細胞には、その内部に多数のオルガネラが存在する。オルガネラのなかでも、一重の脂質二重膜で囲まれた単膜系のオルガネラ（小胞体、ゴルジ体、リソソーム、液胞、細胞膜等）同士は、輸送小胞という、脂質膜でできた小胞で連絡している。すなわち、小胞体膜上で合成されたタンパク質は、小胞体内腔に入ったあと、小胞体膜から出芽する輸送小胞によって、ゴルジ体に輸送される。さらにゴルジ体からも輸送小胞が出芽し、最終目的地である、リソソーム（液胞）や細胞膜および細胞外へ輸送される。また、細胞膜へ運ばれたタンパク質や細胞外の成分も、輸送小胞によって細胞内へ運びこまれる。このような輸送小胞を用いた輸送形式を小胞輸送という（図2）。また近年は、真核生物の細胞内の小胞

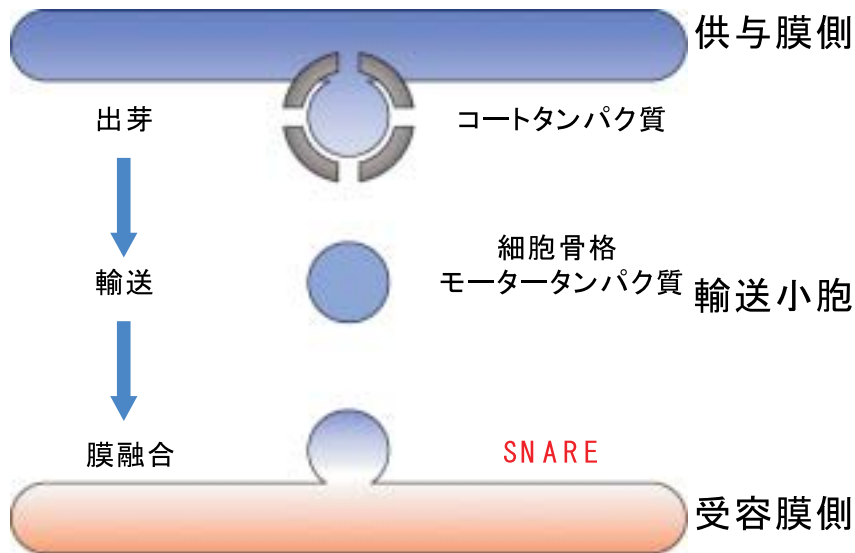


図2 小胞輸送の概略

輸送の複雑さから、メンブレントラフィック（膜交通）というような呼び方をすることもある。小胞輸送では、出発地のオルガネラを出た輸送小胞が、正確に目的地であるオルガネラに融合する必要があるが、同一の細胞内で多くの種類の輸送小胞が用いられているため、輸送小胞と目的のオルガネラとの正確な融合を

行うために多くの分子が関わっている。その中でも、SNARE(Soluble NSF-attachment Protein Receptor)は、輸送小胞と標的となるオルガネラ膜との融合の特異性を決定するために重要な働きをしているタンパク質である。SNAREは、分子量3万程度のC-末端に膜貫通領域を持つ膜タンパク質で、構造の類似性からQa-SNARE, Qb-SNARE, Qc-SNARE, R-SNAREの4種類のSNAREタンパク質に分類される。細胞内における小胞輸送において、輸送小胞が標的膜に融合する際には、輸送小胞に存在するR-SNAREと受容膜に存在するQa-, Qb-, Qc-SNAREがSNARE複合体を形成することで、輸送小胞と標的膜の融合がおこると考えられている(図3)。

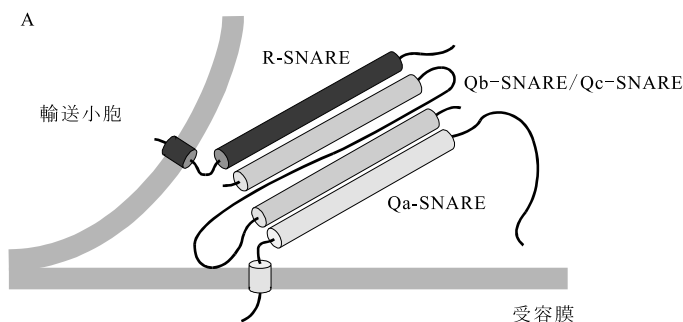


図3 SNARE複合体の形成機構
A: 輸送小胞に存在するR-SNAREと受容膜に存在する3種類のQ-SNARE(Qa, Qb, Qc)が、輸送小胞と受容膜の融合時にSNARE複合体を形成する。なお、細胞膜上では、Qb, Qc-SNAREが融合したSNAP-25という分子がSNARE複合体形成に関与している。

前述したように輸送小胞と受容膜の融合は、正しい組み合わせで行われなければ、細胞内のトラフィックは混乱を引き起こしてしまい、細胞は生存できなくなってしまう。このような事態を避けるため、SNAREタンパク質は、それぞれのオルガネラへの輸送経路に特異的なものが存在している。このため細胞には非常に多くのSNAREタンパク質が発現している。これらのSNAREタンパク質は、それぞれのオルガネラ膜上で特異的なSNARE複合体を形成していると考えられている。

3. シロイヌナズナにおけるSNAREタンパク質の局在

筆者らが、解析を開始した2001年時点においてシロイヌナズナのゲノム上には、少なくとも54種類のSNARE遺伝子が存在することが明らかとなっていた(現在

では、65種類あることがわかっている)。しかしながら、その時点で、それらの細胞内局在は、ほとんど明らかとなっていなかった。筆者らは、シロイヌナズナ全SNAREの細胞内局在を明らかにするために、全てのSNAREタンパク質に緑色蛍光タンパク質(GFP)あるいは黄色蛍光タンパク質(YFP)を融合したGFP-融合型SNAREタンパク質を、シロイヌナズナ培養細胞に発現させ、それらの局在を共焦点レーザー顕微鏡で解析することにより決定し、シロイヌナズナSNAREの細胞内局在マップの作成を行った(図4)。この結果より、シロイヌナズナでは、

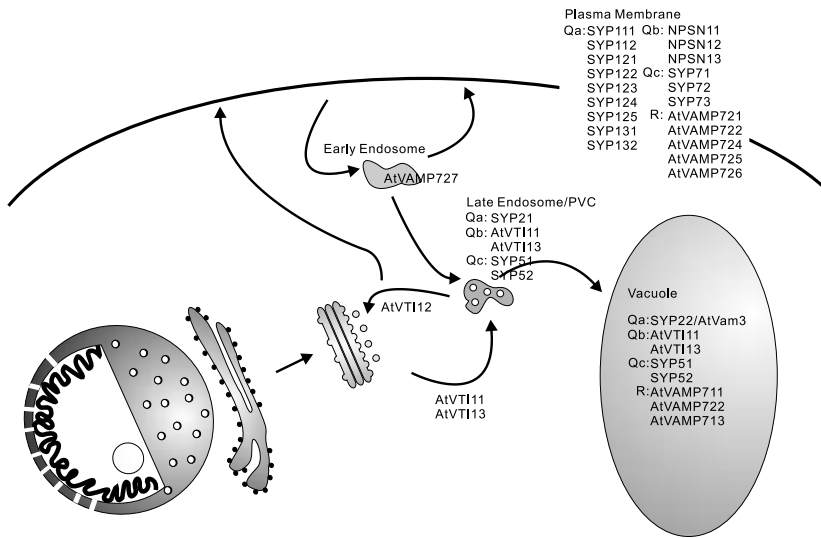


図4 シロイヌナズナにおけるゴルジ体以降のオルガネラに存在するSNAREの細胞内局在
基本的に、各々のオルガネラには、一種類のSNARE複合体が存在するが、細胞膜だけは、
多数のSNARE分子が存在する。

基本的に一種類のオルガネラには、一種類ずつのSNAREが存在するが、細胞膜のみは、多数のSNAREタンパク質、特にQa-SNAREが存在することが明らかとなった(3)。このことは、細胞膜へ向かう輸送系は複数存在することと、植物体の成長段階においてSNAREタンパク質の使い分けがあることを示唆している。筆者らは、その可能性を確かめるために以下のような実験を行った。

4. 細胞膜Qa-SNAREの発現パターンと細胞膜上における局在性

筆者らは、植物体での細胞膜Qa-SNAREの発現パターンと細胞膜上における局在性を同時に解析するために、自己プロモーターの制御下でGFPを融合した細胞膜Qa-SNAREを発現する形質転換シロイヌナズナを作成し、植物体の発達段階ごとの各SNAREの発現パターンと細胞膜上の局在性を、共焦点レーザー顕微鏡を

用いて解析した。

その結果、細胞膜上のQa-SNAREは、それぞれ特異的な組織特異的発現パターンを示し、発達の過程において各細胞膜型Qa-SNAREを使い分けていることが明らかとなった(図5)。特に根毛細胞では細胞膜Qa-SNARE、SYP123が、また花粉の発達時には、SYP124, SYP125がそれぞれ特異的に発現し、SYP123は根毛の先端(図6)、SYP124,SYP125は花粉管の先端に強く局在化していることなどが明らかとなった(図7)(4)。

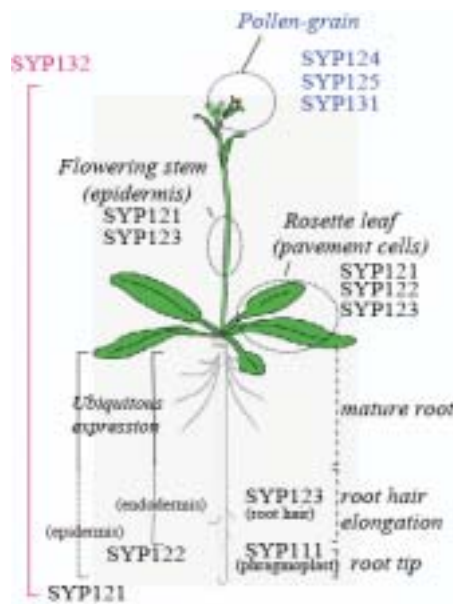


図5 シロイヌナズナにおける細胞膜型Qa-SNAREの発現部位
SYP132は、植物体全組織で発現しているが、それ以外のSNAREは、特定の組織において発現している(文献4)。

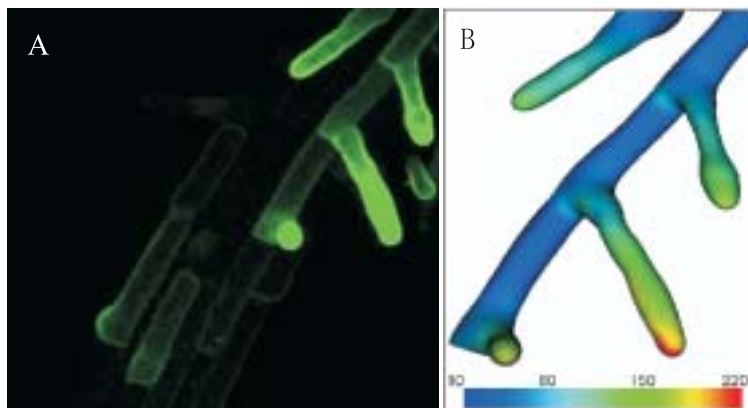


図6 根毛細胞におけるGFP-SYP123の局在パターン
SYP123は根毛細胞において根毛の先端に局在している。
A: GFP-SYP123の共焦点レーザー顕微鏡像を3時限化したもの
B: 画像解析ソフトウェアLEANTによって、蛍光強度を可視化したもの。
赤いほど、蛍光強度が高い(文献4)。

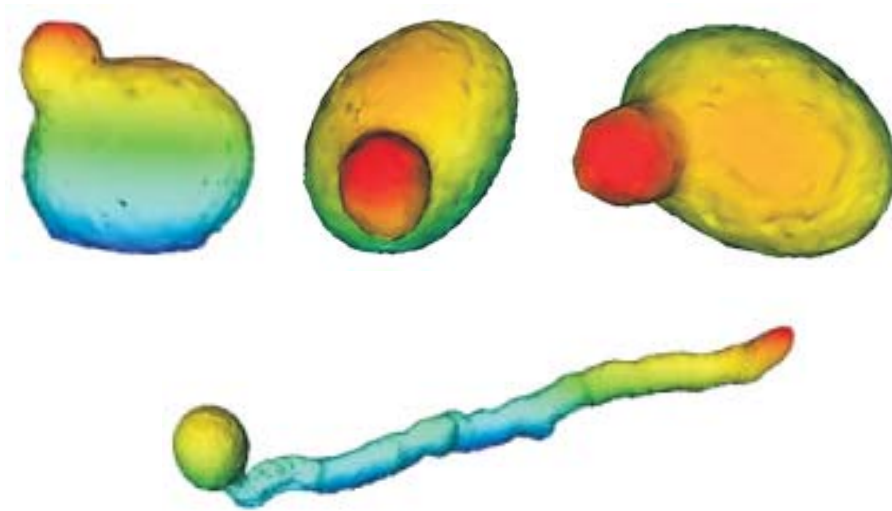


図7 発芽した花粉におけるGFP-SYP125の局在性の解析
画像解析ソフトウェアLEANTによって、共焦点レーザー顕微鏡
画像を立体構築した。赤い領域が蛍光強度が強い領域で、花粉管の
先端にGFP-SYP125が局在していることがわかる。

5. 根毛の伸長時におけるSYP123の役割

GFP-SYP123の根毛先端部分への局在は、アクチンの重合阻害剤である Latrunculin Bを処理すると、根毛の先端のGFP-SYP123の集中が解消された(図8)。また、根毛の伸長時におけるSYP123の役割を明らかにするために、ABRC

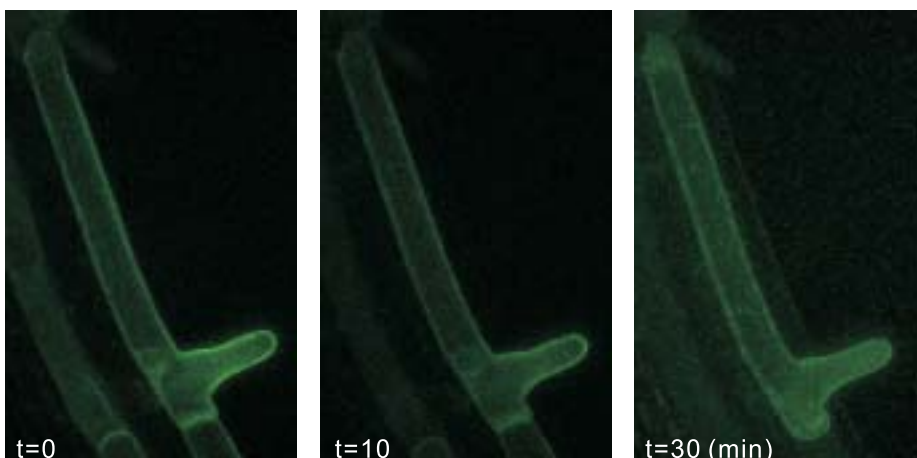


図8 アクチン重合阻害剤Latrunculin BによるGFP-SYP123の根毛先端部への局在の解消
Latrunculin B処理後、30分で根毛先端部の蛍光強度が低下しているのがわかる。

(Arabidopsis Biological Resource Center) より、SYP123遺伝子が破壊されたトランスポゾンタグラインを入手し、解析を行った。その結果、SYP123遺伝子が破壊されたシロイヌナズナにおいては、花粉管の長さが、野生型の2/3ほどに短くなることがわかった(図9)。このことは、SYP123に依存した輸送経路は、根毛の伸長にある一定程度の寄与をしていることを意味していると考えられる。

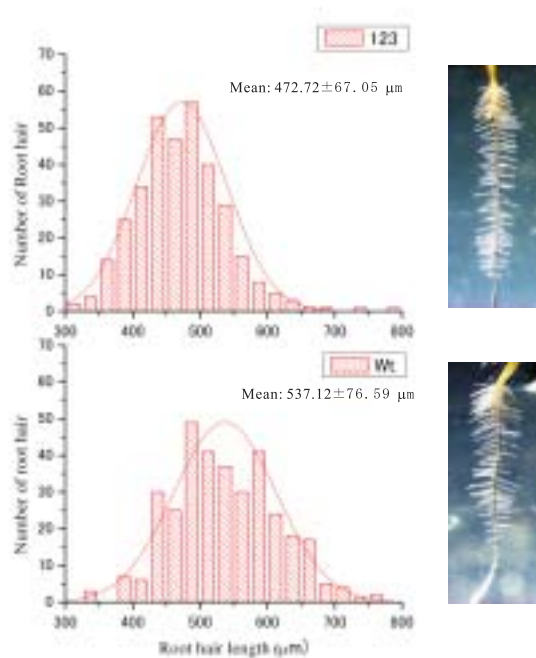


図9 SYP123遺伝子破壊株において根毛の伸長は、若干低下する。

以上の結果より、SYP123は、根毛細胞のみで発現しており、アクチン依存的に、根毛の先端に局在し、根毛の伸長時の根毛先端部への膜輸送に関与していることが明らかとなった。

6. まとめ

細胞膜型Qa-SNAREのうち、SYP121, SYP122は、うどんこ病菌の感染時に、病原菌の侵入を防ぐバピラ形成に機能することが分かっている(5)。また、SYP111は、細胞分裂時の細胞板の形成時に働くことが明らかにされている(6)。これらのSNAREに加えて、今回、筆者らの研究によって、根毛や花粉管伸長時の細胞の先端成長に働くSNARE分子が明らかとなった。今後、これらのSNARE分子の細胞の先端成長時における詳細な作用メカニズムを明らかにすべく、様々

な実験を行っていきたいと考えている。

7. 参考文献

1. Yan, Z. and Fowler, J. E., Annu Rev Cell Dev Biol, (2008), 24, 551-575
2. Cole, R. A., Curr Opin Plant Biol, (2006), 9, 579-588
3. Uemura, T. et al., Cell Struct Funct, (2004), 29, 49-65
4. Enami, K. et al., Plant Cell Physiol, (2009), 50, 280-289
5. Robatzek, S., Cellular Microbiology, (2007), 9, 1-8
6. Batako, H. and Moore, I., Curr Biol, (2001), 11, R423-R426